



TITLE:

4-7 ヒトおよびアカゲザル内在性レトロウイルスHERV-Kのウイルス学的解析(X.共同利用研究 2.研究成果)

AUTHOR(S):

加藤, 伊陽子

CITATION:

加藤, 伊陽子. 4-7 ヒトおよびアカゲザル内在性レトロウイルスHERV-Kのウイルス学的解析(X.共同利用研究 2.研究成果). 霊長類研究所年報 2008, 38: 94-94

ISSUE DATE:

2008-08-31

URL:

<http://hdl.handle.net/2433/166551>

RIGHT:

トラ島産であると考えられる。マイクロサテライト多型解析には、これまでにアジルテナガザルとミューラーテナガザルで中～高程度の多型が確認されている 17 遺伝子座を用い、蛍光プライマーによる PCR 増幅の後 ABI3130 オートシーケンサーで泳動し遺伝子型を決定した。D2S1368 および D14S255 の 2 つの座位では多型が全く見られず単型ホモ接合体のみであった。D1S533 遺伝子座は、アジルおよびミューラーでは増幅断片が 3 つ以上見られる等で遺伝子型決定が不可能であったが、フクロテナガザルではタイピングが容易に可能であった。今後は外部形態に差異が見られるといわれるマレー半島産のフクロテナガザルの解析を加え、フクロテナガザルの遺伝的組成の地域差や地理的分化の過程について解明していきたい。

4-5 霊長類アルコール分解酵素遺伝子の重複とクラスターの進化

太田博樹 (東京大・院・新領域)

ヒトのゲノム中には 5 つのクラスに分けられる 7 つのアルコール加水分解酵素 (ADH) 遺伝子が存在し、これらは第 4 番染色体上に並んで位置している。一方、げっし類 (マウスおよびラット) も 5 クラス 7 ADH 遺伝子を持っているが、ヒトでは 7 つの ADH がそれぞれ異なる基質活性と組織特異的発現を示すのに対し、げっし類では全ての酵素がヒトより広範囲に (非特異的に) 発現している。ヒトでは肝臓で特異的に発現する 3 つのクラス I 遺伝子がエタノールの代謝に最もよく関わっているが、げっし類ではクラス I 遺伝子が 1 つしか存在しない。ヒト以外の霊長類では、大型類人猿で 3 つのクラス I 遺伝子が存在することが、私達の先行研究で示された。本研究では、ヒトを含む霊長類で ADH 遺伝子がどのように遺伝子重複し、そのクラスターが進化してきたかを明らかにすることを目的とし、霊長類 10 種 (大型類人猿 3 種、旧世界ザル 3 種、新世界ザル 2 種、原猿 2 種) とコウモリの ADH 遺伝子クラスター全体 (ヒトで約 380kb) の塩基配列決定および分子進化学的解析を行う。

私たちは BAC ライブラリーをスクリーニングし、ADH 遺伝子クラスターをカバーすると予想される BAC クローンのショットガン塩基配列決定を進めている。バブーンの ADH 遺伝子クラスターは、ほぼ全長が決定した。ところが、そもそもクラス I ADH 遺伝子は、互いに酷似しているためコンピュータによる自動アセンブリの行程で、ショットガン配列の順番を間違えたり、本来より多く配列を繰り返したりしてしまう可能性が高い。共同利用で得られる試料は、こうしたアセンブリ確認に用いる。これまでにアカゲザル、ミドリザル、ヨザル、コモンマーモセットの血液サンプルを採取した (全てオス)。これらからゲノム DNA を抽出し、これらを鋳型とした PCR および直接塩基配列決定により、Gap を埋める作業を行なっている。

4-6 生体防御系の霊長類比較ゲノム研究と集団ゲノム研究

安波道郎、菊池三穂子 (長崎大・国際連携研究戦略本部), 山崎朗子 (長崎大・熱帯医学研究所)

マカク属霊長類は、ヒトの疾患モデルとして医学・生

物学的な利用価値の高く、そのゲノム情報の収集は重要な研究課題である。

我々はこれまでに、脊椎動物の多くの種において免疫遺伝学的な特性の個体差を規定する主要組織適合性複合体 (MHC) についてアカゲザルの遺伝子解析法を開発し、免疫不全ウイルス (SIV) に対する応答性が異なるアカゲザル個体群が分離する家系で古典的 MHC クラス I である Mamu-A, Mamu-B のハプロタイプが共分離しており、感染抵抗性が MHC クラス I の個体差によって規定される可能性が高いことを明らかにした。

さらに、感染因子に対する自然抵抗性を規定する Toll 様受容体 (TLR) について、研究を進めた。細菌由来のエンドトキシンに対する受容体であることが知られている TLR2 および TLR4 のタンパクをコードする遺伝子領域をゲノム DNA から PCR 法で増幅・単離して塩基配列を解読することでアカゲザル、カニクイザル、ニホンザルの 3 種のマカク属霊長類の種内個体差および種間での多様化を明らかにした。ヒトに比べマカク属ではこれらの遺伝子の塩基配列により高頻度に非同義置換が認められることに興味を持たれ、その機能的な意味付けは今後の課題として残された。

[文献] Tanaka-Takahashi Y, Yasunami M, Naruse T, Hinohara K, Matano T, Mori K, Miyazawa M, Honda M, Yasutomi Y, Nagai Y, Kimura A. Reference strand-mediated conformation analysis (RSCA)-based typing of multiple alleles in the rhesus macaque MHC class I Mamu-A and Mamu-B loci. Electrophoresis 28: 918-924 (2007). Yamamoto H, Kawada M, Tsukamoto T, Takeda A, Igarashi H, Miyazawa M, Naruse T, Yasunami M, Kimura A, Matano T. Vaccine-based, long-term, stable control of simian/human immunodeficiency virus 89.6PD replication in rhesus macaques. J Gen Virol. 88: 652-659 (2007).

4-7 ヒトおよびアカゲザル内在性レトロウイルス HERV-K のウイルス学的解析

加藤伊陽子 (山梨大・医)

ヒト内在性レトロウイルス (HERV) のうち、HERV-K は五百万年以上前に類人猿が感染したウイルスの情報を保存している。HERV-K の LTR によるプロウイルス遺伝子の転写機構を明らかにするため、LTR の機能解析と生体での転写産物の解析を試みた。(1) 単離した HERV-K (ヒト 7p22.1) の LTR (1Kb) を使った機能解析では、LTR3'末端 100bp 以内にある、TATA box を伴わない Inr1, Inr2 配列 (代表者の命名) が主な転写開始点となっている、特異な LTR であるとわかった。(2) アカゲザルの組織とヒト細胞から RNA を精製し、LTR からウイルス遺伝子に至る様々な領域を増幅して mRNA の構造を推定した。その結果、ヒト細胞では LTR-Inr に依存しない mRNA が高レベルで、隣接遺伝子のプロモータによる転写と考えられた。この LTR-Inr 非依存性転写はアカゲザルの子宮、卵巣などで検出されたが、肝、脾その他では見られなかった。さらに、脳その他で LTR の Inr に依存する転写が検出できた。二重スプライスによるオンコジーン様遺伝子 Rec の発現は検出できなかった。(1) (2) により、LTR の U3-R-U5 構造は進化的変化を受け、アカゲザルでは HERV-K 配列の転写が LTR-Inr 依存性に起こる頻度が高いと考えられた。